

6 OCT 1964

B 11.10.21

BIOLOGIE D'*HETERODERA ORYZAE* LUC & BERDON, 1961

I. — CYCLE DU PARASITE
ET RÉACTIONS HISTOLOGIQUES DE L'HÔTE

PAR

R. BERDON BRIZUELA (*)

&

G. MERNY

Heterodera oryzae LUC & BERDON, 1961, parasite du riz, a été découvert à Bokakouamekro, près de Bouaké, dans la région centrale de Côte-d'Ivoire. Cette espèce tropicale et adaptée aux rizières inondées, pouvait, dans son comportement, présenter des différences appréciables avec les espèces des régions tempérées, parasites de plantes de terre ferme, dont, pour certaines, la biologie commence à être bien connue.

L'étude de la biologie de *H. oryzae* a donc été entreprise, au laboratoire de Nématologie de l'O.R.S.T.O.M. et le présent article fait état des travaux préliminaires relatifs au cycle du parasite et aux réactions histologiques de la plante-hôte.

A. — Matériel et techniques :

Les juvéniles utilisées pour les inoculations provenaient de la souche originale de Bokakouamekro entretenue au laboratoire.

Les inoculations furent faites sur des plantules de riz de la variété « Moroberekan » (variété type) cultivées soit sur gel de silice soit en terre préalablement stérilisée.

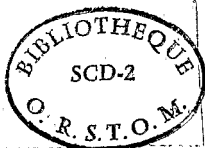
Pour l'étude du cycle du parasite, le système racinaire de la plante inoculée était coloré en entier à la fuschine acide (GOODEY 1957), les nématodes extraits et montés dans la glycérine. Pour l'étude des

(*) En stage pour le compte du Gouvernement mexicain; Adresse actuelle : Avenida Revolución, 7, San Andres-Tuxtla, Vera Cruz, Mexique.

Fonds Documentaire IRD



010022573



REV. DE PATH. VÉG. ET ENT. AGR. DE FR.

43 (1), 1964, 43-53.

Fonds Documentaire IRD

Cote : B * 22573 Ex : 2

réactions histologiques de l'hôte, les racines parasitées furent fixées au Regaud, déshydratées et montées suivant les techniques usuelles. Les coupes, d'une épaisseur variant entre 10 et 20 μ , furent colorées à la thionine phéniquée.

B. — Cycle du parasite :

DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE. JUVÉNILES DU 1^{er} STADE.

Les œufs contenus dans le kyste ou dans la masse gélatineuse extérieure à la femelle présentent un contenu granuleux. La figure A, planche I, montre le premier stade de la segmentation qui ait été observé. Le contenu de l'œuf est séparé en deux parties par une cloison transversale présentant, dans sa partie médiane, un angle très obtus. Une moitié de l'œuf présente un noyau en voie de division et la seconde est coupée en quatre parties par deux cloisons perpendiculaires provenant d'une segmentation récente. Il se manifeste donc un certain retard entre les blastomères dès les premières divisions. Il n'a pas été possible d'observer avec précision les stades suivants (8, 16, etc.). La croissance de l'embryon se fait en spirale et une première flexion apparaît. La croissance en longueur cesse juste avant qu'ait lieu la première mue. Le juvénile du premier stade ainsi formé ne possède pas de stylet.

Immédiatement après la première mue ont lieu la formation du stylet et la différenciation de la région céphalique.

JUVÉNILE DU 2^e STADE.

Il se forme entre 9 et 11 jours après le moment où l'œuf commence à se former dans l'ovaire. Il arrive à son plein développement à l'intérieur de l'œuf où il se trouve replié cinq fois sur lui-même.

L'éclosion peut avoir lieu soit dans la masse d'œufs, soit dans le

Légende de la planche I

Heterodera oryzae

- A : Œuf en cours de segmentation;
- B : Juvénile du 2^e stade pénétrant dans une racine;
- C : Primordium génital chez un juvénile femelle du 3^e stade;
- D : Primordium génital chez un juvénile mâle du 3^e stade;
- E : Juvénile femelle du 3^e stade;
- F : Ornementations cuticulaires longitudinales chez un juvénile femelle du 4^e stade.

Grossissements : A-C-D-F \times 1 000. — B \times 150. — E \times 400.

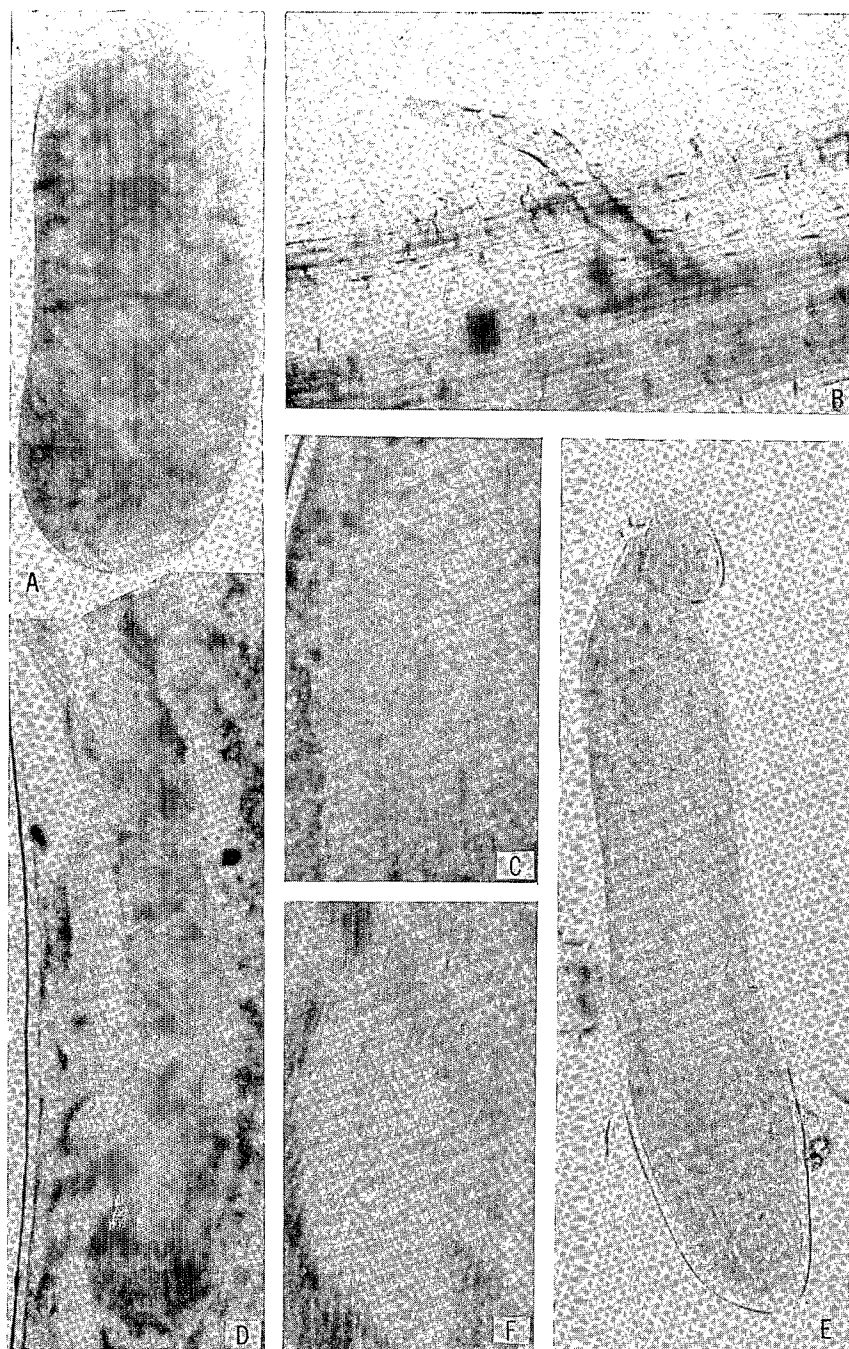


PLANCHE I

kyste dont le juvénile sort par les « fenestrae ». Constituant le stade libre et mobile de la vie du nématode, le juvénile du 2^e stade va pénétrer dans une racine et s'y fixer. Il pénètre obliquement dans le tissu cortical (fig. B, planche I). Son cheminement suit parfois une ligne en zigzag comme s'il se faufilait entre les couches cellulaires. Il peut alors, soit rester dans cette position, une partie du corps demeurant hors de la racine, soit pénétrer entièrement et se loger le long du cylindre central et parallèlement à celui-ci. On n'a pas observé, sur la racine, de région privilégiée pour l'entrée des juvéniles.

Les caractères morphologiques et biométriques des juvéniles du 2^e stade ont été précisés dans la description originale (LUC & BERDON, 1961). Rappelons brièvement que leur longueur est de 0,37-0,51 mm (moyenne 0,44 mm) pour une largeur de 16,5 à 19,5 μ (moyenne 17,7 μ), leur corps est robuste, peu aminci à l'avant et très effilé à l'arrière, les lèvres comportent quatre anneaux séparés du corps par une fine incisure, le stylet mesure 19,5-22 μ , la cuticule est mince, finement annelée, le champ latéral marqué de 3 lignes longitudinales et la partie hyaline de l'extrémité de la queue beaucoup plus longue que le stylet (35-45 μ), ces deux derniers caractères permettant de déterminer l'espèce au seul examen des juvéniles du 2^e stade.

Le temps pendant lequel les juvéniles ainsi formés peuvent rester dans l'œuf est très variable et ce stade, correspondant à une diapause, constitue une rupture dans le cycle. La durée de conservation des juvéniles dans cet état ainsi que leur éclosion dépendent de facteurs extérieurs non encore précisés pour cette espèce (chaleur, humidité, intervention de facteurs de nature chimique). Ils seront étudiés ultérieurement.

DEUXIÈME MUE.

Elle commence le 3^e ou le 4^e jour après l'entrée du juvénile dans la racine et dure environ 3 jours.

Légende de la planche II

Heterodera oryzae

- A : Juvénile femelle du 4^e stade;
- B : Formation du mâle adulte (4^e mue);
- C : Femelle adulte avec masse d'œufs en formation;
- D : Coupe d'une racine attaquée au niveau du point de pénétration de l'extrémité antérieure de la femelle;
- E : Cicatrice laissée sur la racine par une femelle détachée.

Grossissements : A-B \times 400. — C \times 100. — D-E \times 200.

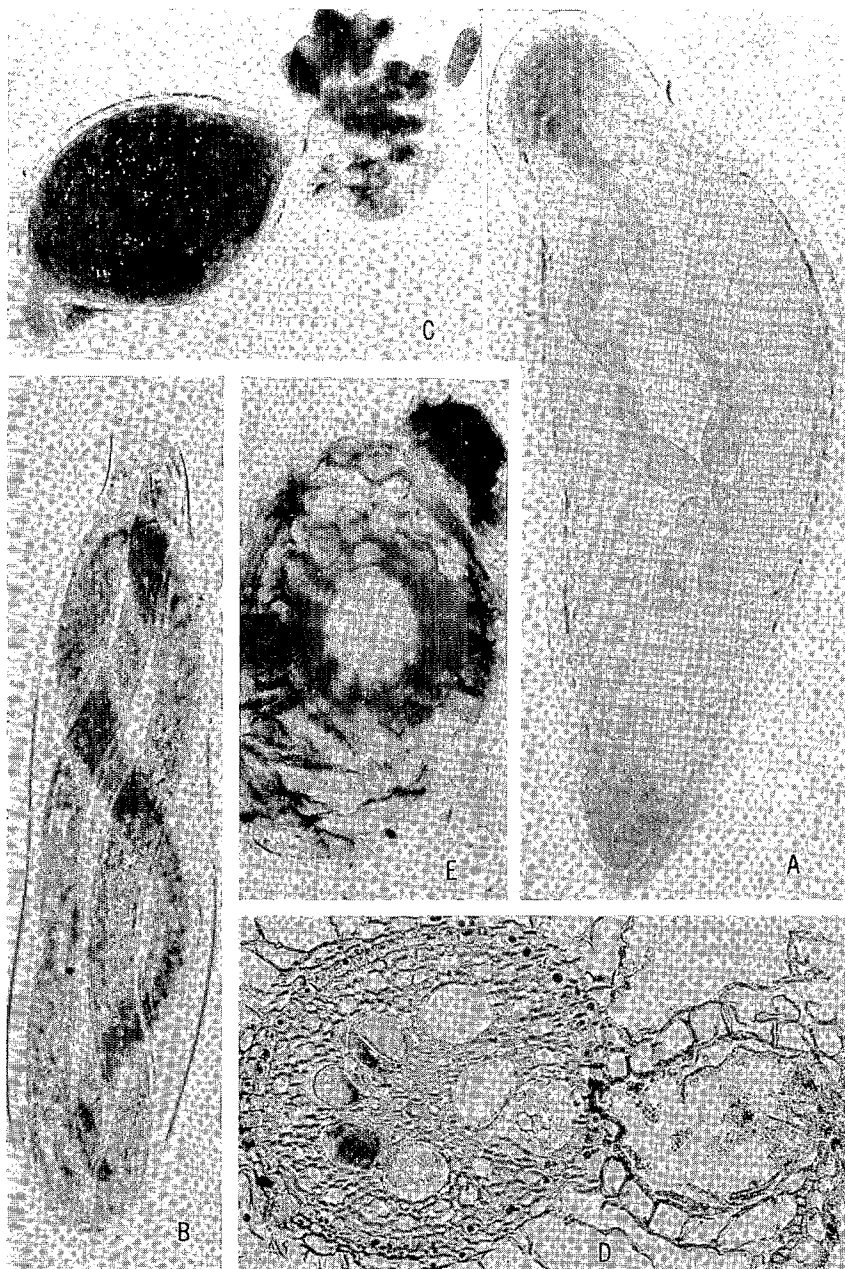


PLANCHE II

Le juvénile de 3^e stade se forme à l'intérieur de la cuticule du 2^e stade. La 2^e mue est caractérisée par la formation du primordium génital qui, à la fin de la mue mesure environ $30 \times 16 \mu$.

JUVÉNILE DU 3^e STADE.

Il apparaît bien formé le 6^e ou le 7^e jour. A ce stade, le primordium génital se développe rapidement et la distinction des sexes devient possible.

Chez les juvéniles femelles, le primordium génital se divise en deux branches qui vont croître rapidement vers l'avant (fig. C planche I) alors que chez les juvéniles mâles, il ne se divise pas et c'est en une seule branche qu'il croît vers l'avant, l'extrémité antérieure se recourbant vers l'arrière (fig. D pl. I).

Le juvénile femelle de 3^e stade croît en longueur jusqu'à dépasser 500μ et surtout en largeur qui double de dimension. La queue, si elle est toujours terminée par une pointe, devient beaucoup plus renflée dans sa région subterminale (fig. E, pl. I). Le bulbe médian augmente aussi beaucoup de taille, passant de $14 \times 9 \mu$ à $24 \times 18 \mu$. La cuticule ne présente aucune ornementation.

Chez le juvénile mâle, la croissance en largeur est un peu moins importante que chez le juvénile femelle (jusqu'à 70μ environ). Le stylet est très fin et mesure environ 16μ . La région céphalique présente un certain nombre de fines ornementations cuticulaires transversales. A ce stade le bulbe médian a des dimensions légèrement plus grandes chez le juvénile femelle ($30 \times 20 \mu$) que chez le juvénile mâle ($21-23 \times 16-18 \mu$), différence déjà observée par RASKI (1950) chez *H. schachtlii*.

TROISIÈME MUE.

Elle apparaît le 9^e ou le 10^e jour chez les juvéniles femelles et un peu plus tôt chez les juvéniles mâles (8^e ou 9^e jour). Dans les 2 cas, elle dure environ 2 jours, au bout desquels les juvéniles femelles de 4^e stade commencent à se libérer de l'ancienne cuticule.

JUVÉNILE DU 4^e STADE.

Ce stade est caractérisé par une forte accentuation du dimorphisme sexuel, le juvénile femelle croissant en largeur et le juvénile mâle en longueur en même temps que les organes génitaux se développent.

Les juvéniles femelles de 4^e stade apparaissent le 11^e jour (fig. A planche II). La cuticule présente de fines ornementations longitudinales irrégulièrement confluentes et formant un réseau étiré en longueur (fig. F, pl. I), n'atteignant pas la queue ni la région céphalique, laquelle

est marquée par des anneaux transversaux au nombre d'une douzaine. L'ouverture de la vulve a lieu à la fin de ce stade, aux premiers signes de la 4^e mue.

Le stylet est fin et mesure 19-20 μ , les boutons basaux sont petits et arrondis vers l'arrière, la largeur de la larve peut atteindre 210 μ .

Le juvénile mâle de 4^e stade apparaît le 10^e jour. Son développement se fait entièrement à l'intérieur de la cuticule du juvénile de 3^e stade. Il croît rapidement en longueur et 2 courbures se forment, le juvénile étant à la fin de ce stade replié 3 fois sur lui-même. Au 12^e jour, le stylet commence à prendre sa forme et ses dimensions définitives.

QUATRIÈME MUE.

Elle a lieu vers le 16^e jour chez les juvéniles femelles; la cuticule du 4^e stade se détache.

Chez les juvéniles mâles, elle a commencé les 13^e et 14^e jours et dure jusqu'au 16^e ou au 17^e. Elle est marquée par le développement définitif de la région labiale et la formation des spicules. La 4^e mue a lieu dans les restes de la cuticule du 3^e stade, de telle sorte que l'adulte mâle nouvellement formé est enfermé dans les cuticules des 2 stades précédents (fig. B, pl. II).

ADULTE.

La femelle adulte se gonfle en même temps que son appareil génital prend son plein développement et qu'apparaissent les premiers œufs entre le 20^e et le 25^e jour (fig. C, pl. II). C'est entre le 26^e et le 30^e jour qu'apparaissent les premiers juvéniles de 2^e stade de la génération suivante et que se forment les premiers kystes.

Les mâles adultes se forment le 19^e et le 20^e jours.

On sait que, dans le genre voisin *Meloidogyne*, la présence des mâles n'est pas toujours indispensable à la reproduction, celle-ci étant souvent parthénogénétique, ainsi que l'ont établi TYLER (1933) et DROPKIN (1953) qui obtenaient la formation de femelles fécondes à partir d'inoculations par un seul juvénile. Dans le genre *Heterodera*, ELLENBY (1957) travaillant sur *H. rostochiensis* et GOLDEN (1959) travaillant sur *H. schachtii* concluaient à la nécessité de la présence des mâles pour la reproduction, les rares femelles adultes obtenues dans les deux cas ne contenant pas d'œuf viable. Cependant MULVEY (1958) démontrait qu'*H. trifolii*, ou du moins les races de ce parasite présentes au Canada, peut se reproduire en l'absence de mâles. La parthénogenèse, si elle n'est pas un phénomène courant dans le genre *Heterodera*, peut donc avoir lieu dans certains cas.

Dans le but de savoir si la présence des mâles était indispensable à la reproduction chez *H. oryzae*, une série d'inoculations avec un seul

juvénile a été faite sur 50 plantules de riz suivant une technique dérivée de celles employées par TYLER (1933) et DROPKIN (1953). Une plantule était placée dans une boîte de Pétri, sur du papier filtre très humide. Un juvénile était déposé sur la racine, qu'on recouvrait ensuite de sol stérile. Chaque jour, du sol stérile était ajouté pour recouvrir les parties mises à nu par la croissance en longueur de la racine. Au bout d'une semaine, la plantule était repiquée, en pot, sur terre stérile. Après 28 jours, les racines furent examinées à l'état frais. Sur les 50 inoculations, deux femelles blanches seulement se sont formées, l'une ne comportant aucune formation extérieure, l'autre portant une masse gélatineuse vide d'œufs. Cette dernière femelle, conservée dans l'eau, a mis plusieurs semaines, temps anormalement long, pour se transformer en kyste et celui-ci était vide. Il semble donc bien que l'intervention du mâle soit indispensable à la reproduction d'*Heterodera oryzae*.

Modifications histologiques des racines attaquées

L'extrémité antérieure de la larve du 2^e stade, après avoir traversé les tissus corticaux, traverse l'endoderme et le péricycle et se loge dans la couche externe du cylindre central. S'il s'agit d'une larve femelle, l'augmentation importante de sa largeur, à partir du 4^e stade, fait éclater les tissus corticaux. Dans la plupart des cas, cet éclatement va jusqu'à la déchirure de l'épiderme et une partie de la femelle ayant atteint son plein développement est extérieure à la racine. L'éclatement de l'épiderme, s'il est parfois tardif, a toujours lieu et les masses d'œufs sont constamment formées à l'extérieur.

La figure D, planche 2, montre une coupe transversale d'une racine passant exactement par le point où la tête de la femelle se logeait dans le cylindre central. On voit qu'à ce point le péricycle et l'endoderme sont détruits.

En 1930, O'BRIEN & PRENTICE signalaient, dans le cylindre central de plants de pommes de terre attaqués par *H. rostochiensis*, la présence de cellules géantes, formations qui ont été, depuis, retrouvées dans d'autres racines attaquées par un *Heterodera*. Mais, si les formations décrites en détail par COLE & HOWARD (1958) commencent par une hypertrophie de cellules du cortex et du péricycle qui gagne ensuite des cellules du cylindre central pour former un amas de véritables cellules géantes, celles décrites par MANKAU & LINFORD (1960) dans des racines de trèfle attaquées par *H. trifolii* ne sont que le résultat d'une lyse des parois cellulaires de certaines régions du cylindre central aboutissant à une jonction protoplasmique pour former un syncytium plurinucléé, sans aucune hypertrophie. Il semble donc qu'on ait réuni sous le nom de « cellules géantes », des formations très différentes.

Dans le cas d'*Heterodera oryzae*, on constate la présence, au contact du point extrême de pénétration du nématode, d'une zone de lyse des parois cellulaires, des débris de celles-ci restant visibles. Par contre, on n'observe aucune cellule hypertrophiée. Cette réaction doit être rapprochée de celle décrite par MANKAU & LINDFORD et dans ce cas, le terme « syncytium » doit être préféré à celui de « cellule géante ».

On voit également, sur la fig. D, planche II que des thylls se sont formées dans les vaisseaux ligneux, tendant à les obstruer et qu'autour de la région occupée par la femelle, il s'est formé, dans le parenchyme cortical normalement composé de grandes cellules allongées dans le sens radial, un tissu réactionnel composé d'une couche de cellules parenchymatiques isodiamétriques de petite taille. A notre connaissance ces deux réactions n'ont encore jamais été observées à la suite de l'attaque d'une racine par un *Heterodera*. Il est vrai qu'il s'agit, ici, de racines de monocotylédones et il serait intéressant de comparer les réactions des racines de riz à *H. oryzae* avec celle des graminées des régions tempérées à *H. major* et *H. punctata*.

La désorganisation de certaines régions du cylindre central et l'obstruction des vaisseaux par les thylls doivent certainement léser l'alimentation de la plante-hôte. Des expériences sont en cours pour préciser l'influence de *H. oryzae* sur la croissance du riz.

Conclusions

Le cycle d'*Heterodera oryzae* ne présente aucune particularité ni dans sa durée ni dans les modifications anatomiques subies par l'animal à ses divers stades. En fait, il est, dans ses grandes lignes, tout à fait comparable à celui décrit par RASKI (1950) pour *H. schachtii*.

Ce cycle est court : environ un mois alors que, pendant la campagne rizicole, le riz reste sur pied pendant un temps qui varie avec les variétés, entre 3 et 4 mois. Il est donc possible, sinon probable, que trois ou même quatre cycles se succèdent pendant une campagne, ce qui aurait une grosse influence sur la dynamique des populations du parasite. Les masses d'œufs d'une taille importante dans cette espèce, peuvent jouer, à cet égard, un rôle que des études ultérieures devront préciser.

Il ne semble pas que, comme c'est le cas pour *H. trifolii*, la reproduction puisse se faire sans l'intervention des mâles. Il est d'ailleurs intéressant de noter que ceux-ci, s'ils sont loin d'être aussi nombreux que les femelles, sont couramment rencontrés.

On n'observe pas, dans les racines attaquées, la formation de cellules géantes, dans le sens précis du terme, comme dans le cas d'*H. rostochiensis*, mais seulement des zones de désintégration des parois cellulaires du cylindre central, lesquelles s'apparentent aux syncytia décrits chez *H. trifolii*.

Par contre, on observe des thylles tendant à obturer les vaisseaux et la formation, dans le cortex, d'un tissu réactionnel qui semble avoir pour fonction d'isoler le corps de la femelle des tissus adjacents, formations qui n'avaient pas été observées dans les deux cas précédents.

SUMMARY

The life-cycle of *Heterodera oryzae* LUC & BERDON, 1961, closely resembles that of *H. schachtii*, as described by RASKI, 1950. The fourth moult occurs on the 16th day after the larva has penetrated into the root, for the female, and on the 14th day for the male (respectively 15th and 12th day for *H. schachtii*). The first new formed eggs can be observed between the 20th and the 25th day and the first second-stage larvae begin to move out between the 26th and the 30th day.

Several generations may take place in the same rice crop. The egg-masses, which have a particularly big size in the species, may play an important part in the possible reinfestations. In single larva inoculation trials, parthenogenetic reproduction failed to occur. In the infested roots, areas of desintegration of the cellwalls have been observed within the stele, which resemble the syncytia described for *H. trifolii*. No true giant cell has been observed. In addition, two other histological reactions have been noted : thylles in the vessels and the formation of a tissue around the female body, tending to isolate it from the surrounding cortex tissues.

RESUMEN

El ciclo del *Heterodera oryzae*, LUC & BERDON, 1961, es casi idéntico al del *H. schachtii*, descrito por RASKI en 1950. La cuarta muda en las hembras, — ocurre 16 días después de que la larva penetró en la raíz y para los machos, al 14avo día (respectivamente el 15avo y el 12avo para el *H. schachtii*). Los primeros huevecillos se producen entre el 20 y el 25avo días y, las primeras larvas de segundo estadio, se liberan entre el 26 y el 30avo días. Es posible que varias generaciones se sucedan durante un mismo ciclo arrozero. Las masas de huevos, de talla particularmente importante en ésta especie, pueden jugar un papel de mucha consideración en las posibles reinfestaciones. En los ensayos de inoculación con una sola larva, no se observó la reproducción partenogenética. En el cilindro central de las raíces infestadas, se constató la presencia de — zonas de desintegración de las paredes celulares, semejantes a los sincitos — descritos para el *H. trifolii*. No se observó ninguna verdadera célula gigante. Por otra parte, se constata la presencia de dos reacciones histológicas particulares : tílides en los vasos leñosos y la formación de un tejido alrededor del cuerpo de la hembra, tendiendo a aislarla de los tejidos adyacentes de la corteza.

BIBLIOGRAPHIE

- COLE, C. S. & H. W. HOWARD. — 1958. Observations on giant cells in potato roots infected with *Heterodera rostochiensis*. — *J. Helm.*, **32**, 135-144.
- DROPKIN, V. H. — 1953. Studies on the variability of anal plate patterns in pure line of *Meloidogyne* sp. the root-knot nematode. — *Proc. helm. Soc. Wash.*, **20**, 32-39.
- ELLENBY, C. — 1957. An investigation into the possibility of parthenogenesis in the potato root eelworm, *Heterodera rostochiensis* WOLLENWEBER. — *Nematologica*, **2**, 250-254.
- GOLDEN, M. — 1959. Significance of males in reproduction of the sugar-beet nematode (*Heterodera schachtii*). — *Pl. Dis. Rep.*, **43**, 979-980.
- GOODEY, J. B. — 1957. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. — *Min. Agric. Fish., techn. Bull.* n° 2, 47 p.

- LUC, M. & R. BERDON-BRIZUELA. — 1961. *Heterodera oryzae* n. sp., parasite du riz en Côte-d'Ivoire. — *Nematologica*, **6**, 272-279.
- MANKAU, R. & M. B. LINFORD. — 1960. Host-parasite relationships of the clover cyst nematode, *Heterodera trifolii* GOFFART. — *Univ. Illinois Agric. Exp. St., Bull.*, **667**, 50 p.
- MULVEY, R. H. — 1958. Parthenogenesis in a cyst-forming nematode : *Heterodera trifolii* (Nematoda : Heteroderidae). — *Canad. J. Zool.*, **36**, 91-93.
- O'BRIEN, D. G. & E. G. PRENTICE. — 1930. An eelworm disease of potatoes caused by *Heterodera schachtii*. — *Scott. J. Agric.*, **13**, 415-432.
- RASKI, D. J. — 1950. The life history and morphology of the sugar beet nematode, *Heterodera schachtii* SCHMIDT. — *Phytopathology*, **40**, 135-152.
- TYLER, J. — 1933. Reproduction without males in aseptie root cultures of the root knot nematode. — *Hilgardia*, **7**, 373-388.

(Office de la Recherche scientifique et technique Outre-Mer,
Laboratoire de Nématologie, Abidjan, Côte-d'Ivoire.)

